Lane Medical Library

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. W. Ernst.

Die Brauchbarkeit der Schardingerreaktion zum Nachweise der Dauererhitzung der Milch.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
vorgelegt von

Friedrich Renner,
approb. Tierarzt.

München 1932.

Druck von J. Gotteswinter, München.

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. W. Ernst.

Die Brauchbarkeit der Schardingerreaktion zum Nachweise der Dauererhitzung der Milch.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität in München
vorgelegt von

Friedrich Renner,
approb. Tierarzt.

München 1932.

Druck von J. Gotteswinter, München.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München,
Referent: o. ö. Prof. Dr. Wilhelm Ernst.

Meiner lieben Mutter gewidmet!

In seiner Inauguraldissertation (1) hat Seberich festgestellt, daß sich die sogenannte Schardingerreaktion der Milch zum Nachweis einer erfolgten Dauererhitzung eigne, falls diese 63—65° C. erreicht habe. Jedoch sei hiezu Erhöhung und bestimmte, dem Zwecke angepaßte Bemessung des Methylenblaugehaltes des Reagenses nötig.

Es wurde mir die Aufgabe zuteil, zu untersuchen, ob diese Feststellung zutrifft und sich auf diese Weise eine Untersuchungsart schaffen läßt, die den Nachweis der Dauererhitzung der Milch, wie sie auf Grund des Reichsviehseuchen- und des Milchgesetzes zu erfolgen hat, gestattet.

Ehe in die eigentliche Behandlung des Gegenstandes eingetreten wird, sei eine kurze Darstellung der Art und des Wesens der Schardingerreaktion vorausgeschickt.

Die Schardingerreaktion.

Sie beruht auf der Beobachtung Frz. Schardingers (2), daß frische, rohe Kuhmilch, die mit wässeriger, alkoholischer Formalinmethylenblaulösung versetzt und dadurch gebläut wird, wobei bestimmte, von ihm festgelegte Mengenverhältnisse einzuhalten sind, sich bei einer Temperatur von 45—50° C. in einigen Minuten wieder bis zum Milchweiß entfärbt, wogegen abgekochte Milch blau bleibt.

Man erhoffte sich von dieser Entdeckung, daß nunmehr eine Möglichkeit zur Unterscheidung roher von gekochter Milch gefunden sei. Diese Erwartung erfüllte sich jedoch nicht, da man alsbald erkannte, daß abgekochte Milch nach längerem Stehen an der Luft oder nach Beimpfen mit einer Öse saurer Milch nach einiger Zeit die Fähigkeit der Entfärbung wieder erlangt.

Ferner gewahrte man, daß die einzelnen Milcharten sehr verschiedene Entfärbungsfähigkeit besitzen. So fehlt diese der Milch einzelner Kühe zuweilen völlig; dieses gilt auch für Ziegen- und Frauenmilch. Fettreiche Milch entfärbt sich gewöhnlich rascher als fettarme, Magermilch fast gar nicht.

Als Ursache des Entfärbungsvorganges glaubte man ein Ferment annehmen zu müssen, das den Milchfettkügelchen anhafte. Nach den eingehenden Untersuchungen von Georg Schwarz (3) sei es an deren Eiweißhüllen gebunden. Eine Trennung hievon gelang bisher nicht.

Dieses Ferment bedarf, um seine Wirkung entfalten zu können, der Anwesenheit von Aldehyden wie Formalin, Acetaldehyd o. a.; auch Methylenblau kann durch andere Farbstoffe wie z. B. Indigo ersetzt werden. Durch Erhitzung der Milch auf 75° und darüber wird die Wirksamkeit des Ferments vernichtet, nachdem sie vorher schon eine erhebliche Abschwächung erfahren hat.

Hinsichtlich seiner chemischen Art stellt der Vorgang eine Reduktion dar, weshalb das vorliegende Ferment den sogenannten Reduktasen beigezählt wird. Das Methylenblau, das als salzsaures Salz oder als Zinkchloriddoppelsalz der Basis Tetramethylthionin hergestellt wird, erfährt hiebei durch H-Anlagerung Überführung in eine Leukobase (4).

Nach diesen einleitenden Ausführungen soll nun in die eigentliche Behandlung des Gegenstandes eingetreten werden.

Technische Vorbemerkungen.

1. Herstellung der Reagenzien.

Zunächst suchte ich mir ein Urteil über das Verhalten der Milch gegenüber Reagenzien mit verschiedenem Methylenblaugehalte zu verschaffen, deren übrige Bestandteile jedoch nach Art und Menge den Originalvorschriften Schardingers entsprachen.

Nun wird dem Schardinger-Reagens das Methylenblau in Form der gesättigten, alkoholischen Lösung zugefügt. Wollte ich nun mit dem Methylenblaugehalte nicht auch gleichzeitig den an Alkohol ändern, so mußte ich beide getrennt von einander zugeben. Aus diesem Grunde mischte ich das Methylenblau den herzustellenden Reagenzien in fester Form bei.

Um die richtigen Verhältnisse wahren zu können, mußte ich nun aber wissen, wieviel reines Methylenblau die Maßeinheit der gesättigten, alkoholischen Lösung enthält. Diese Größe wurde im Tierhygienischen Institute durch Eindampfen einer bestimmten Menge dieser Lösung, genaue Wägung des

Verdampfungsrückstandes und Beziehung auf die Maßeinheit ermittelt. Hiebei ergab sich, daß 5 ccm der gesättigten alkoholischen Methylenblaulösung 51,9 mg reines Methylenblau enthalten.

Die gewünschten Reagenzien fertigte ich nun stets in der Weise an, daß ich die erforderliche Methylenblaumenge auf Milligramm genau abwog, in destilliertem Wasser auflöste und dieser Lösung dann Alkohol und Formalin zugab. Diese Flüssigkeiten wurden entsprechend den Angaben Schardingers bemessen, nämlich im Verhältnis 38 : 1 : 1 in Raumeinheiten für Wasser : Alkohol : Formalin. Nur der Methylenblaugehalt wurde in ein Vielfaches der ursprünglichen Menge abgeändert.

In dieser Weise stellte ich ein Reagens mit vierfacher und ein solches mit einviertelfacher Methylenblaumenge des nach den Angaben Schardingers angefertigten her. Dieses sei künftighin als Normalreagens oder n-Reagens bezeichnet, sein Methylenblaugehalt als Normalgehalt = n und dementsprechend die beiden anderen als 4 n- und ¼ n-Reagens.

Ein n-Reagens wurde mir vom Tierhygienischen Institute zur Verfügung gestellt. Durch kolorimetrische Vergleichung der Reagenzien untereinander prüfte ich ihre Methylenblaugehalte nach, wobei sich das Vorhandensein der gewünschten Verhältnisse ergab.

2. Dauererhitzung der Milch.

Für die anzustellenden Versuche benötigte ich ferner rohe und dauererhitzte Milch.

Die rohe Milch bezog ich teils vom Tierzuchtinstitute der Fakultät, teils aus dem öffentlichen Milchverkauf.

Unter dauererhitzter Milch soll eine solche verstanden werden, die eine halbe Stunde lang einer Hitzeeinwirkung von 63° C. ausgesetzt war.

Diese Dauererhitzung nahm ich selbst in der Weise vor, daß ich ungefähr 150 ccm Rohmilch in einen Erlenmeyerkolben goß, diesen in einen Topf mit Wasser stellte und darin die Milch mittels einer Bunsenflamme auf 63° anwärmte, was ein in den Kolben gestelltes Thermometer anzeigte. War dieser Wärmegrad erreicht, so setzte ich diesen Topf in einen wesentlich größeren, der entsprechend vorgewärmtes Wasser enthielt. Das Ganze stellte so ein doppeltes

Wasserbad dar. Die Temperaturen in den verschiedenen Gefäßen waren so aufeinander abgestimmt, daß die Milchwärme stets auf 63° verblieb. Mittels einer entsprechend eingestellten Bunsenflamme wurden diese Verhältnisse in stets gleichbleibender Weise aufrecht erhalten. Durch Einlegen von Drahteinsätzen zwischen die ineinandergestellten Gefäße war dafür Sorge getragen, daß ihre Bodenflächen durch eine Wasserschicht von einander getrennt waren.

3. Versuchsanordnung.

Bei Anstellung der Versuche selbst hielt ich mich zunächst an die Angaben Schardingers. Ich füllte Reagensröhrchen der Ausmaße 18 : 1,7 in cm mit 20 ccm Milch und gab hiezu 1 ccm des Reagenses. Die so beschickten Röhrchen stellte ich in ein doppeltes Wasserbad, das elektrisch geheizt und dessen Wärme durch einen selbsttätigen Regler ständig auf 48° gehalten wurde, was die Optimaltemperatur für den Ablauf der Schardingerreaktion sein soll. In dieser Weise wurden die nachfolgend verzeichneten Versuche zur Ausführung gebracht.

Versuche mit Schardinger'scher Anordnung.

1.

Die Reagenzien ¼ n und 4 n werden zum Vergleiche ihrer Wirkungsweise roher und dauererhitzter Milch zugefügt und damit die Schardingerreaktion ausgeführt. Hiebei ergaben sich folgende Entfärbungszeiten in Minuten:

Reagens	Milch	
	roh	dauererhitzt
¼ n	5	6
n	7	7
4 n	7	9

Diese Zahlen stellen die Mittelwerte aus 5 mit Milchen verschiedener Herkunft angestellten Versuchen dar.

Sie zeigen, daß die Versechzehnfachung des Methylenblaugehaltes von ¼ n bis 4 n kaum einen Unterschied in der Entfärbungsdauer hervorruft; auch entfärbt die dauererhitzte Milch fast ebenso rasch als die rohe.

2.

Es erschien nun von Wert zu wissen, was eintreten würde, wenn die gleichen Methylenblaumengen wie vorher mittels ein und demselben Reagense zugeteilt würden, wovon dann natürlich entsprechend mehr oder weniger als 1 ccm genommen werden mußte.

Diesen Versuch führte ich mit dem n- und dem 4 n-Reagens aus. Die hiebei verwendeten Mengen, sowie die aufgetretenen Entfärbungszeiten waren:

Mengenzuteilung an		Entfärbungszeit in Minuten bei Milch	
Methylenblau	Reagens in ccm	roh	dauererhitzt
a) bei Ausführung mit dem n-Reagens :			
1/4 n	0,25	17	18
n	1,0	7	9
4 n	4,0	5	11
b) bei Ausführung mit dem 4 n-Reagens:			
1/4 n	0,0625	nicht entfärbt	nicht entfärbt
n	0,25	17	24
4 n	1,0	8	10

Auch hier handelt es sich wieder um die Mittelwerte mehrerer Versuche.

Aus ihnen wird ersichtlich, daß eine Verringerung der zugesetzten Reagensmenge unter 1 ccm eine Verlängerung der Entfärbungsdauer nach sich zieht. Bei Zugabe kleinster Mengen tritt überhaupt keine Entfärbung mehr ein. Dies ist jedenfalls auf die damit gleichzeitig erfolgende große Schmälerung der Formalinmenge zurückzuführen.

Auch hier unterscheiden sich die Entfärbungszeiten der rohen Milch nicht sehr wesentlich von denen der erhitzten. Die Reduktionskraft der Milch kann demnach durch die Dauererhitzung bei 63° nur verhältnismäßig wenig geschwächt worden sein.

3.

Es drängte sich nun der Gedanke auf, zu versuchen, ob sich vielleicht durch fortschreitende Erhöhung des Methylenblaugehaltes eine Grenze erreichen ließe, bei der rohe Milch gerade noch entfärben würde, dauererhitzte aber vermöge

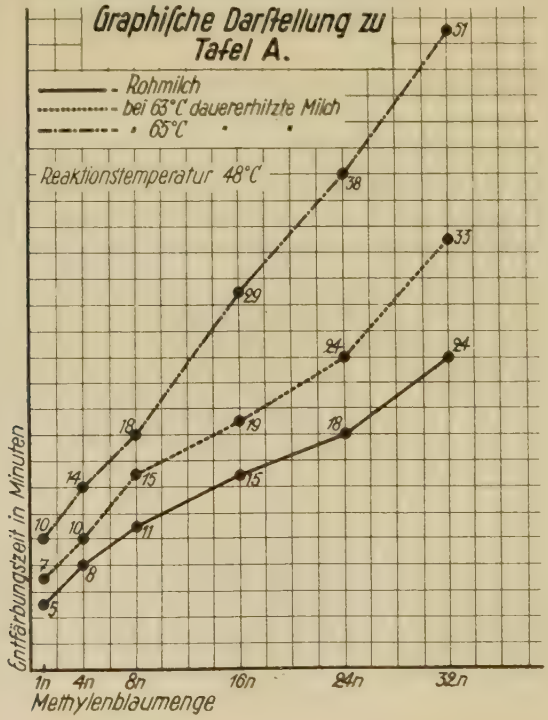
ihrer immerhin geschwächten Reduktionskraft gefärbt bliebe und hiedurch ein deutlich sichtbarer Unterschied in dem Verhalten dieser beiden Milcharten zutage treten würde.

Zu diesem Zwecke stellte ich nun noch Reagenzien mit den Methylenblaugehalten 8-, 16-, 24- und 32 n her und führte damit die Schardingerreaktion in gleicher Weise wie bisher aus. Das ¼ n-Reagens fand weiterhin keine Verwendung mehr.

Die Ergebnisse dieser Versuche verzeichnet nachfolgende Tafel A. Beiliegende graphische Darstellung soll zu ihrer Veranschaulichung beitragen.

Tafel A.

Milch	Reagens					
	1 n	4 n	8 n	16 n	24 n	32 n
roh	5	8	11	15	18	24
bei 63° dauererhitzt . . .	7	10	15	19	24	33
bei 65° dauererhitzt . . .	10	14	18	29	38	51



In den Kreis der Untersuchungen zog ich von nun an noch bei 65° dauererhitzte Milch, um zu ersehen, ob hiebei ein größerer Unterschied in der Entfärbung gegenüber Rohmilch zutage treten würde.

Aus obigen Aufzeichnungen geht hervor:

1. Erhöhung der Methylenblaumenge zieht Verlängerung der Entfärbungsdauer nach sich.
2. Erhitzte Milchen weisen im allgemeinen eine längere Entfärbungsdauer auf als rohe.
3. Der Unterschied zwischen der Entfärbungsdauer der erhitzten Milchen und dieser der rohen ist größer und augenfälliger bei Anwendung stark methylenblauhaltiger Reagenzien als bei schwächeren; jene müßten demnach als zweckdienlicher erscheinen.
4. Trotz alledem sind diese Unterschiede verhältnismäßig gering und reichen zu einer deutlichen Unterscheidung der dauererhitzten Milchen von den rohen nicht aus; insbesondere gilt dies für die bei 63° dauererhitzte Milch.

Diese Feststellungen schienen nun die eingangs erwähnten Seberich'schen Untersuchungen nicht zu stützen.

Eine noch weitergehende Erhöhung des Methylenblaugehaltes vorzunehmen, mußte als untunlich erscheinen, da sich schon bei den bisher verwendeten höheren Farbstoffkonzentrationen Schlierenbildung bemerkbar machte, die den Ablauf der Reaktion störend beeinflußte.

Nun hat aber Seberich seine Versuche nicht genau nach den Angaben Schardingers ausgeführt, sondern abweichend hievon zu diesem **10** statt **20 ccm** Milch verwendet und eine Reaktionstemperatur von **60°** C. statt **45—50°** C. innegehalten.

Vor Anstellung weiterer Versuche unter diesen anders gearteten Bedingungen sollte aber noch geprüft werden, welchen Einfluß eine Änderung des Formalin- sowie des Alkoholanteils im Reagens ausüben würde.

Änderung des Formalinanteils.

Bei einem vorhergehenden Versuche, bei dem die zugegebene Reagensmenge sehr wesentlich unter 1 ccm sank, war schon beobachtet worden, daß damit eine sehr starke Verzögerung der Entfärbung und schließlich überhaupt deren

Ausbleiben herbeigeführt wird. Hiebei war schon ausgeführt worden, daß diese Wirkung auf die gleichzeitig erfolgende Verringerung der Formalinmenge zurückzuführen ist.

Im gegenwärtigen Versuch erhöhte ich nun diese, indem ich zu jedem wie bei den vorhergehenden Versuchen beschickten Röhrchen noch eine gewisse Menge Formalin zusetzte. Als Reagens wählte ich willkürlich das 4 n-fache.

Die Entfärbungszeiten waren in Minuten:

Milch	Formalinzugabe zur Mischung in ccm							
	0	0,025	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
roh	5	4	3	3	n*)	n	n	n
bei 63° dauererhitzt .	5	3	3	4	n	n	n	n
bei 65° dauererhitzt .	9	5	5	teilw. entf.	n	n	n	n

Demnach vermag eine Erhöhung des Formalingehaltes bis zu 0,1 ccm je 1 ccm Reagens die Entfärbungsdauer zu verkürzen, d. h. den Ablauf der Reaktion zu beschleunigen. Eine Überschreitung dieser Menge hebt sie aber überhaupt auf.

Im Zusammenhange mit dem schon über die Wirkung der Verringerung der Formalinmenge Ausgeführten kann nun gesagt werden, daß die für das Zustandekommen der Reaktion erlaubte Schwankungsbreite des Formalins verhältnismäßig gering ist.

Änderung des Alkoholanteils.

In gleicher Weise wie vorher die Menge des Formalins wurde nun diese des absoluten Alkohols verändert. Es ergaben sich dann folgende Entfärbungszeiten in Minuten:

Milch	Alkoholzugabe zur Mischung in ccm							
	0	0,025	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
roh	6	7	6	7	7	7	7	7
bei 63° dauererhitzt .	7	7	7	7	7	8	8	8
bei 65° dauererhitzt .	9	9	10	10	10	10	11	11

Die Änderung des Alkoholgehaltes übte somit keinen wesentlichen Einfluß auf den Ablauf der Reaktion aus.

*) n = Entfärbung trat nicht ein.

Versuche mit Seberich'scher Anordnung.

Bei den folgenden Versuchen wurden die Röhrchen mit je 10 ccm Milch und 1 ccm Reagens beschickt entsprechend dem oben Gesagten, sowie die Wasserbadwärme auf 60 ° C. gebracht.

Die Versuchsergebnisse wurden, da bei den erhitzten Milchen in den meisten Fällen gänzliche Entfärbung nicht mehr eintrat, nicht mehr nach der Länge der Entfärbungsdauer beurteilt und aufgezeichnet. Statt dessen wurde der Farbton vermerkt, der nach genügend langer Beobachtungszeit, die meist eine Stunde und noch länger währte, verblieb und sich nicht mehr änderte. Trat völlige Entfärbung ein, so war dieser milchweiß; in allen anderen Fällen aber blieb entweder das ursprünglich vorhandene Blau bestehen oder dieses blaßte mehr oder weniger ab, so daß schließlich ein hellblauer oder blaßblauer Farbton zustande kam.

Stellte sich ein milchweißer Farbton bei einer dauererhitzten Milch ein, so wurde dies als ein negatives Ergebnis gewertet. Dieselbe Beurteilung erfuhr ein verbleibender blaßblauer Ton in jedem Falle, da dieser zuweilen bei stark entfärbenden erhitzten Milchen, sowie bei schlecht entfärbenden rohen auftrat und somit eine sichere Schlußfolgerung nicht zuläßt.

1.

In einem Vergleichsversuche sollte zunächst der Ablauf der Reaktion bei 60 ° dem bei 48 ° gegenübergestellt werden.

Hiezu verwendete ich zwei Ladenmilchen verschiedener Herkunft. Die Röhrchen wurden mit den oben genannten Mengen versehen, wobei ich das 12 n-Reagens wählte und dann in Wasserbäder der gewünschten Wärmegrade verbrachte.

Der Ablauf der Reaktion gestaltete sich folgendermaßen:

Milch Nr.	Wasserbadwärme Grad	verbleibender Farbton der Milch		
		roh	bei 63° dauererhitzt	bei 65 ° dauererhitzt
1	48	milchweiß	milchweiß	hellblau
	60	„	hellblau	blau
2	48	„	milchweiß	hellblau
	60	„	blau	blau

Es entfärbte also bei der Reaktionstemperatur von 60° keine dauererhitzte Milch mehr, während bei derjenigen von 48° die bei 63° dauererhitzte noch milchweiß wurde. Die Rohmilchen entfärbten in beiden Fällen ganz.

2.

Diese neue Versuchsanordnung wurde nun an 25 Milchen verschiedener Herkunft unter Anwendung von Reagenzien unterschiedlichen Methylenblaugehaltes erprobt.

Nachfolgende Tafel verzeichnet die hiebei erzielten Ergebnisse, die nach oben geschilderter Maßgabe in positive und negative eingeteilt wurden.

Milch-nummer	Reagens	Entfärbung bei Milch			Ergebnis
		roh	bei 63° dauererhitzt	bei 65° dauererhitzt	
1	16 n	milchweiß	hellblau	blau	+
2	16 n	„	blau	„	+
3	16 n	„	hellblau	„	+
	24 n	blaßblau	blau	„	−
4	16 n	milchweiß	hellblau	„	+
	24 n	blaßblau	„	hellblau	−
5	8 n	milchweiß	milchweiß	blau	−
	16 n	„	hellblau	„	+
6	8 n	„	milchweiß	hellblau	−
	16 n	„	hellblau	blau	+
7	8 n	„	milchweiß	milchweiß	−
	16 n	„	„	„	−
8	12 n	„	blaßblau	hellblau	−
	16 n	„	hellblau	blau	+
9	12 n	„	blaßblau	hellblau	−
	16 n	„	hellblau	blau	+
10	12 n	„	milchweiß	hellblau	−
	16 n	„	hellblau	blau	+
11	12 n	„	blaßblau	hellblau	−
	16 n	„	hellblau	blau	+
12	8 n	„	milchweiß	blaßblau	−
13	8 n	„	hellblau	hellblau	+
14	8 n	„	milchweiß	blau	−
15	8 n	„	blau	„	+
16	8 n	„	milchweiß	blaßblau	−
	12 n	„	„	blau	−
	16 n	„	blaßblau	„	−
	8 n	„	„	hellblau	−
17	12 n	„	blau	blau	+
	16 n	blaßblau	„	„	−
18	12 n	milchweiß	„	„	+
19	12 n	„	„	„	+
20	12 n	„	hellblau	„	+
21	12 n	„	blau	„	+
22	12 n	„	„	„	+
23	8 n	„	milchweiß	hellblau	−
24	8 n	„	blau	blau	+
25	12 n	„	blaßblau	„	−

Diese Zusammenstellung zeigt, daß die dauererhitzten Milchen in den meisten Fällen gefärbt blieben.

Zählt man die Anzahl der positiven und negativen Ergebnisse zusammen und verteilt sie auf die jeweils verwendeten Reagenzien, so ergibt sich folgende Übersicht:

Reagens	Zahl der untersuchten Milchen	Ergebnis		Hundertstelanteil der negativen Ergebnisse
		positiv	negativ	
8 n	11	3	8	73
12 n	12	6	6	50
16 n	13	10	3	24
24 n	2	—	2	100

Die geringste Anzahl der Fehlergebnisse tritt demnach beim 16 n-Reagens auf, während das 12 n- und das 8 n-Reagens deren weit mehr aufweisen. Als völlig unbrauchbar erscheint das 24 n-Reagens, bei dem sogar die Rohmilch nicht mehr entfärbt und das deshalb als wesentlich zu stark methylenblauhaltig anzusprechen ist.

Verteilt man die Fehlergebnisse auf die verschiedenen Milchen hinsichtlich ihrer Vorbehandlung, so finden sich die meisten bei der bei 63° dauererhitzten Milch mit der Zahl 16. Hievon kommen aber nur zwei dem 16 n-Reagens zu, alle anderen den weniger methylenblauhaltigen.

Die bei 65° dauererhitzte Milch weist 4 Fehlergebnisse auf, von denen eines dem 16 n-Reagens zukommt. In diesem Falle handelte es sich aber um Institutsmilch, die wegen ihrer Herkunft von einigen wenigen, unter besonderen Haltungsbedingungen stehenden Tieren meist ein anderes Verhalten als Handelsmilch zeigte. Für diese sollen aber gegenwärtige Untersuchungen bloß gelten.

Auf die Rohmilch entfallen 3 Fehlergebnisse, von denen 2 durch das schon als unbrauchbar gekennzeichnete 24 n-Reagens verursacht wurden. Bei dem Restigen lag eine ungewöhnlich schlecht entfärbende Handelsmilch vor.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Reaktion bei dieser Versuchsanordnung an Brauchbarkeit zur Unterscheidung roher von dauererhitzter Milch wesentlich gewinnt. Der Methylenblaugehalt des 16 n-Reagenses dürfte der geeignetste hiefür sein.

Jedoch werden Fehlergebnisse auch hiebei nicht restlos ausgeschlossen, wie das Nichtentfärben roher Handelsmilch in einem Falle und das Entfärben erhitzter in einem anderen zeigt.

Versuche mit verdünnter Milch.

In dem Schrifttum über die Schardingerreaktion findet sich verschiedentlich erwähnt, daß Verdünnung der Milch mit Wasser den Ablauf der Reaktion in hemmendem Sinne beeinflußt.

Dieser Hinweis veranlaßte mich zu untersuchen, wie sich diese Erscheinung bei erhitzter Milch im Vergleiche zu roher auswirken würde und ob sich vielleicht durch Milchverdünnung die Möglichkeit der Unterscheidung dieser Milcharten voneinander steigern, d. h. die Reaktion sich hinsichtlich dieses Zweckes zuverlässiger gestalten lasse.

Zunächst stellte ich in Reagensröhrchen eine Reihe Milchverdünnungen mit destilliertem Wasser her und zwar so, daß das Milch-Wassergemisch in jedem Röhrchen 10 ccm betrug, der Verdünnungsgrad der Milch aber von Röhrchen zu Röhrchen stieg. Hiebei wählte ich folgende Verhältnisse von Milch : Wasser : 3 : 1, 2 : 1, 1 : 1, 1 : 2 und 1 : 3. Den Anfang der Reihe bildete ein Röhrchen mit 10 ccm unverdünnter Milch. Jedes Röhrchen versetzte ich dann mit 1 ccm Reagens und zwar zuerst mit dem 1 n-, bei wiederholter Ausführung des Versuches mit dem 4 n- und dem 8 n-Reagens, worauf sie ins Wasserbad von 60° wie bei den vorhergehenden Versuchen verbracht wurden. Diesen Versuch führte ich mit roher, bei 63° und bei 65° dauererhitzter Milch aus. Die Ergebnisse hiebei waren folgende:

Milch	Reagens	Entfärbungszeit in Minuten bei Verdünnung					
		10 : 0	3 : 1	2 : 1	1 : 1	1 : 2	1 : 3
roh	1 n	3	3	5	11	n*)	n
„	4 n	4	5	6	n	n	n
„	8 n	4	12	25	n	n	n
dauererh. bei 63°	1 n	3	10	n	n	n	n
„	4 n	8	20	n	n	n	n
„	8 n	15	n	n	n	n	n
dauererh. bei 65°	1 n	fast entf.	n	n	n	n	n
„	4 n	n	n	n	n	n	n

*) n = Entfärbung trat nicht ein.

Hieraus geht hervor, daß Verdünnung der Milch mit Wasser die Entfärbung verzögert und diese von einer gewissen Verdünnungsstärke an, die für Rohmilch die Überschreitung des Verhältnisses von Milch zu Wasser wie 1 : 1 bildet, überhaupt nicht mehr eintreten läßt. Bei dauererhitzter Milch stellt sich diese Grenze bereits früher ein, ebenso bei Verwendung stärker methylenblauhaltiger Reagenzien im Vergleiche zu schwächeren.

Erhitzte Milch erweist sich also hinsichtlich der Erhaltung ihrer Reaktionsfähigkeit weniger verdünnbar als rohe. Dieser Umstand müßte dazu beitragen die Unterscheidung der beiden Milchen voneinander sicherer zu gestalten.

Um dies zu prüfen, stellte ich mit einer Reihe bei 63° dauererhitzter Milchen, die in unverdünntem Zustande noch enttärbt hatten, die Reaktion nach Verdünnung an. Hiebei wählte ich das Verhältnis von Milch zu Wasser wie 1 : 1, wobei ich je 5 ccm nahm, so daß das Gemisch entsprechend der bisher verwendeten Milchmenge ebenfalls 10 ccm betrug. Hiezu gab ich aber nur die Hälfte der bisherigen Reagensmenge, nämlich ½ ccm, da ja auch der Milchanteil auf die Hälfte verringert worden war.

Tatsächlich trat nun in einer Reihe von Fällen keine Entfärbung der erhitzten Milchen mehr ein, bei rohen jedoch stets noch. An Reagenzien wurden hiebei das 8n-, sowie das 12 n-fache verwendet.

Die Milchverdünnung mit Wasser erweist sich demnach als ein Mittel, das die Unterscheidung roher von erhitzter Milch mit Hilfe der Schardingerreaktion zuverlässiger gestaltet.

Zusammenfassung.

Wenn ich nun die Ergebnisse der vorstehenden Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Schardingerreaktion zum Nachweise einer erfolgten Dauererhitzung der Milch zusammenfasse, so möchte ich mich hiebei folgendermaßen ausdrücken:

1. Dauererhitzte Marktmilchen entfärben sich nach Zugabe eines Reagenses mit dem 16fachen Methylenblaugehalte des ursprünglichen Schardingerreagenses, dessen übrige Bestandteile völlig unverändert belassen werden, meist nicht mehr, insbesondere wenn die Erhitzung

65° C. erreicht hat, während bei Verwendung von Reagenzien geringeren Farbstoffgehaltes Entfärbung meist noch eintritt.

2. Bei Vornahme der Probe sind Reagensröhrchen mit 10 ccm Milch und 1 ccm Reagens zu füllen und hierauf in ein Wasserbad von 60° C. zu verbringen. Bei der im Schrifttum als optimale verzeichneten Reaktionstemperatur von 45—50° C. entfärben auch die dauererhitzten Milchen stets.
3. Vorteilhaft erweist sich zur Erhöhung der Sicherheit der Ergebnisse eine Verdünnung der Milch mit Wasser im Verhältnis 1 : 1, so daß also 5 ccm Wasser zu ebensoviel Milch zu geben sind und hiezu ½ ccm des 16fachen Schardingerreagenses.
4. In seltenen Fällen können erhitzte Marktmilchen auftreten, die bei dieser Versuchsanordnung noch entfärben; ebenso rohe, bei denen dies nicht eintritt. Es kommt der Reaktion deshalb keine unbedingte Sicherheit zu. Immerhin dürfte aber ihrem Ausfalle bei der Entscheidung der Frage, ob es sich um rohe oder dauererhitzte Milch handelt, eine gewisse Bedeutung zukommen, insbesondere wenn nebenbei noch andere Untersuchungsarten mit herangezogen werden.

* * *

Am Ende dieser Arbeit ist es mir ein Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. W. Ernst für deren gütige Zuerteilung und Förderung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. J. Seberich: Inaug.-Diss. München 1931 „Zur Frage des Nachweises der Niedererhitzung der Milch mit Hilfe eines besonders eingestellten Schardingerreagenses." — Wird in der Münch. Tierärztl. Wochenschrift 1932 veröffentlicht.
2. Frz. Schardinger: „Mitteilungen aus der K. K. Allgem. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel" in Wien, 5. Jahrgang, Heft 22, S. 1113.
3. Dr. Gg. Schwarz: „Milchwirtschaftliche Forschungen, Zeitschrift f. Milchkde. u. Milchwirtsch. einschl. d. ges. Molkereiwesens" 1929, 7. Bd., S. 572 ff.
4. Dr. T. Baumgärtel: „Kritische Bemerkungen zur Reduktaseprobe", S. 6 ff.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Renner, wurde geboren am 8. September 1899 in München als Sohn des städtischen Ingenieurs Friedrich Renner und dessen Ehefrau Mathilde, geb. Krembs.

Ich besuchte die Oberrealschule in München, an der ich im Juli 1919 die Hochschulreife erlangte. In der Zeit vom 2. Juni 1917 bis zum Dezember 1918 leistete ich Heeresdienst in der Heimat sowie im Felde.

Nach Vollendung des Mittelschulstudiums bildete ich mich in der Landwirtschaft aus. Zuerst war ich als Gutspraktikant tätig, um mich dann zu Beginn desWintersemesters 1921/22 an der Landwirtschaftlichen Abteilung der Technischen Hochschule in München zu immatrikulieren. Dort erhielt ich nach Ablegung der Diplomhauptprüfung im Juli 1924 den Grad eines Diplomlandwirtes.

Anschließend hieran widmete ich mich dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät in München. Im Juli 1928 wurde ich als Tierarzt approbiert.

Seither war ich als Assistent bei verschiedenen praktischen Tierärzten tätig; zudem legte ich den einjährigen Vorbereitungsdienst für den amtstierärztlichen Dienst in Bayern ab.